

Série A, N° 121
N° d'Ordre: 143

THÈSES

Présentées à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Ilie STOLERU

Licencié ès-sciences

1^{re} THESE. — RECHERCHES SUR LES PROPRIÉTÉS ANTISEPTIQUES DU
HOUBLON.

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 13 Juin devant la Commission d'Examen

MM. PORTIER,	<i>Président</i>
FERNBACH,	<i>Examineurs</i>
MOUTON,	

PARIS
SAULAIS & C^{ie}
123, Rue Saint-Maur, 123

1924



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552827_0036

1^e THESE. — RECHERCHE SUR LES PROPRIÉTÉS ANTISEPTIQUES DU HOUBLON.

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

34

THÈSES

Présentées à la Faculté des Sciences
de l'Université de Paris

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Ilie STOLERU

Licencié ès sciences

1^{re} THESE. — RECHERCHES SUR LES PROPRIÉTÉS ANTISEPTIQUES DU
HOUBLON.

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 13 Juin devant la Commission d'Examen

MM. PORTIER,	<i>Président</i>
FERNBACH,	<i>Examineurs</i>
MOUTON,	

PARIS
SAULAIS & C^{ie}
123, Rue Saint-Maur, 123

—
1924

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

Doyen : M. MOLLIARD, *Prof.* Physiologie végétale.

Doyen honoraire : M. P. APPELL

Professeurs honoraires : MM. P. PUISEUX

VELAIN

BOUSSINESQ

PRUVOT



Professeurs :

MM. E. PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.

KÖNIGS Mécanique physique et expérimentale.

GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.

HALLER Chimie organique.

JOANNIS Chimie (Enseignement P. C. N.).

JANET Electrotechnique générale.

WALLERANT Minéralogie.

ANDOYER Astronomie.

PAINLEVE Mécanique anal. et mécanique céleste.

HAUG Géologie.

H. LE CHATELIER Chimie générale.

G. BERTRAND ... Chimie biologique.

M^{me} P. CURIE ——— Physique générale et Radioactivité.

CAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés).

C. CHABRIE Chimie appliquée.

G. URBAIN Chimie minérale.

EMILE BOREL Calcul des probabilités et Phys. mathém.

MARCHIS Aviation.

JEAN PERRIN Chimie physique.

ABRAHAM Physique.

CARTAN Mécanique rationnelle.

LAPICQUE Physiologie.

GENTIL Géographie physique.

VESSIOT Théorie des groupes et calcul des variat.

COTTON Physique générale.

DRACH Application de l'analyse à la géométrie.

CH. FABRY Physique.

CHARLES PEREZ .. Zoologie.

LÉON BERTRAND.. Géologie appliquée et géologie régionale.

LESPIEAU..... Théories chimiques.

LEDUC Physique théorique et physique céleste.

RABAUD Biologie expérimentale.

PORTIER Physiologie comparée.

DANGEARD Botanique.

MONTEL Mathématiques générales.

MAURAIN Physique du globe.

WINTREBERT ... Anatomie et histologie comparées.

DUBOSCQ Biologie maritime.

N..... Géométrie supérieure.

HEROUARD Zoologie.

RÉMY PERRIER .. Zoologie (Enseignement P. C. N.)

SAGNAC Physique théorique et physique céleste.

BLAISE Chimie organique.

PECHARD Chimie (Enseignement P. C. N.).

AUGER Chimie analytique.

M. GUICHARD Chimie minérale.

GUILLET Physique.

JULIA..... Mathématiques générales.

MAUGUIN Minéralogie.

BLARINGHEM Botanique.

MICHEL-LEVY Pétrographie.

Secrétaire :

DANIEL TOMBECK ².

A Monsieur le Docteur E. ROUX

Membre de l'Institut et de l'Académie de Médecine

Directeur de l'Institut Pasteur

A Monsieur A. FERNBACH

Professeur à l'Institut Pasteur

Maître de Conférences à la Faculté des Sciences

Hommages respectueux

A MES PARENTS

AUX MEMBRES DU CERCLE « LIBERTATEA »

A MONSIEUR EDOUARD GHICA

Hommage de sincère reconnaissance.

Ce travail a été fait sous la direction de M. A. Fernbach, dans son laboratoire de l'Institut Pasteur.

Avant d'exposer ces recherches, je me fais un devoir d'offrir à M. Fernbach l'hommage de ma vive reconnaissance pour l'intérêt qu'il m'a constamment montré en toutes circonstances. Au cours de ces essais, son appui, ses conseils et ses encouragements ont été pour moi du plus haut prix.

Qu'il me soit permis de lui adresser ici mes sincères remerciements et en même temps de l'assurer que je sens bien nettement à quel point je suis redevable envers lui.

Je dois également exprimer mes vifs remerciements à M. M. Schoen, pour le bienveillant intérêt qu'il m'a toujours témoigné au cours de mes recherches.

PREMIERE PARTIE

ETUDE SOMMAIRE SUR LE HOUBLON

Parmi les matières premières de la fabrication de la bière, le houblon est l'une de celles qui ont été le plus étudiées ; mais, en raison de la complexité des substances qu'il renferme, leur variabilité et la difficulté de les obtenir à l'état de pureté, les nombreux travaux auxquels cette matière première a donné lieu n'ont conduit qu'à un petit nombre d'applications pratiques. C'est surtout dans l'appréciation de la valeur du houblon que les recherches scientifiques se sont montrées impuissantes, et on en est encore aujourd'hui à rechercher une méthode d'analyse chimique dont les conclusions soient parfaitement d'accord avec les données de la pratique.

A d'autres points de vue, les connaissances sur le houblon sont moins rudimentaires. On connaît assez bien actuellement les éléments les plus importants qu'il renferme, et on est à peu près fixé sur le rôle que jouent quelques-uns d'entre eux dans la fabrication de la bière.

Nous nous proposons dans la présente étude de réunir tous les travaux dans une vue d'ensemble afin de montrer les résultats auxquels ils ont abouti au point de vue théorique et leur importance pratique.

Le houblon (*Humulus lupulus*) est une plante de la famille des Urticacées ; c'est une plante grimpante qui peut atteindre 8-10 mètres, dioïque et à souche vivace. Le houblon croît à l'état sauvage dans les régions tempérées et manque dans les régions où le sol est pauvre en chaux.

On distingue trois espèces de houblons :

1° *Le houblon d'Europe (Humulus lupulus)* c'est l'espèce employée dans la fabrication de la bière à laquelle il communique un arôme et des propriétés organoleptiques qu'on essaierait vainement d'obtenir avec d'autres substances aromatiques et amères.

Le houblon pour la brasserie est cultivé en France dans les deux centres de Busigny et de Bailleul ; dans la région de Bourgogne (Côte-d'Or) qui fournit des houblons très appréciés et dans la région de la Lorraine et de l'Alsace qui fournit également dans certains centres de très bons produits.

Les autres pays producteurs de houblon sont l'Allemagne, les Etats-Unis, l'Angleterre, la Tchéco-Slovaquie, la Belgique et la Russie. Les principales régions houblonnières allemandes sont la Bavière, qui produit les variétés fines de Spalt, de Hallertau ; le Wurtemberg avec les houblons de Tettnaug, de Rottembourg. Dans les Etats-Unis, le houblon est surtout cultivé en Californie et en Orégon ; la production de

la Grande-Bretagne est principalement localisée dans les comtés de Kent et de Sussex. La Tchéco-Slovaquie livre des houblons fins de Saaz et d'Aucha (Bohème).

2° *Le houblon à feuilles cardiformes* (*Humulus lupulus variatas cardifolius*), que l'on trouve en Asie occidentale, au Japon, dans la Russie d'Asie, en Chine.

3° *Le houblon du Japon* (*Humulus Japonicus*), très répandu au Japon et en Chine ; il diffère des deux autres par la forme des cônes et la couleur des bractées.

La partie essentielle du houblon est constituée par les cônes ou inflorescences femelles parvenues à maturité. Le cône de houblon est constitué par des bractées membraneuses, veinées de lignes longitudinales parallèles et ramifiées; certaines de ces bractées sont asymétriques et portent à leur base un repli où se trouve un akène (fruit) de petite taille et lenticulaire. La base des bractées et la surface des fruits sont recouverts de corpuscules ou glandes d'un jaune orangé qui constituent le *lupulin* et qui renferme presque tous les principes actifs du houblon. Dans la fabrication de la bière on n'utilise que les cônes.

Pour obtenir du lupulin, on effeuille les cônes de houblon après les avoir desséchés et on frotte les foléoles sur un tamis; on obtient ainsi une poudre granuleuse d'un brun jaunâtre qui possède une saveur amère, une odeur agréable et aromatique quand elle est fraîche. La valeur du houblon destiné à la brasserie dépend de la quantité et de la qualité du lupulin.

Les principes les plus importants contenus dans le houblon sont les suivants :

L'huile essentielle existe surtout dans les graines du lupulin où elle se trouve mélangée à des résines, et dans lesquelles elle se transforme en s'oxydant. Elle donne à la bière son odeur et sa saveur et contribue essentiellement à la formation du bouquet. L'huile essentielle peut être extraite par distillation dans un courant de vapeur d'eau, soit du lupulin, soit des cônes du houblon. Elle représente de 0,2 à 0,5 pour cent du poids du houblon. A l'état pur, c'est un liquide clair, volatil, soluble dans l'éther, facilement soluble dans l'alcool et presque insoluble dans l'eau.

On a attribué à l'huile essentielle du houblon des propriétés antiseptiques marquées. Des expériences directes faites par MM. Chapman et Burgess, en additionnant d'huile ou de ses éléments constitutifs, divers milieux de culture, ont montré que les propriétés antiseptiques généralement admises n'existent pas. MM. Briant et Meacham sont arrivés à la même conclusion ; il faut revenir à l'opinion de Hayduck qui a attribué ces propriétés aux résines.

M. Bokorny a trouvé, comme M. Chapmann, que l'huile essentielle est très peu soluble dans l'eau, 0,5 gr. dans 10 litres et, à cette concentration, elle n'agit ni sur les bactéries, ni sur les levures.

Il ne faut donc pas attribuer à cette huile un rôle très important dans la fabrication de la bière ; cependant sa présence en grande abondance est l'un des caractères essentiels des houblons de bonne qualité.

Les résines, mélangées dans le houblon aux principes amers, on les rencontre dans la proportion de 4 à 20 pour cent. Elles sont difficilement solubles dans l'eau froide, plus facilement dans l'eau bouillante, et se dissolvent très bien dans l'éther ; elle possèdent une saveur amère très persistante.

Lermer (1) a extrait du houblon deux espèces de résines : *les résines molles*, qui ont une grande valeur pour la brasserie, et *les résines dures* qui n'en ont aucune. Les premières se rencontrent, surtout dans les houblons jeunes et bien conservés ; les secondes se trouvent en plus grande abondance dans les vieux houblons échauffés.

D'après les travaux de Hayduck (2), il existe dans le houblon trois résines, que l'auteur appelle α , β et γ ; les deux premières sont molles et très difficiles à séparer l'une de l'autre. C'est en elles que résident les principales propriétés antiseptiques du houblon vis-à-vis des faux ferments. La résine γ est solide et n'a aucune valeur pour la brasserie.

Les principes amers sont intimement mélangés aux résines, dont il est très difficile de les séparer ; ils jouent un rôle des plus importants dans la fabrication de la bière, à laquelle ils communiquent l'amertume spéciale que l'on y recherche. D'après Payen, Chevalier et Pelletan, le principe amer du houblon, auquel ils ont donné le nom de *lupuline*, est constitué par

(1) Dingler's Journ. **169**, p. 54.

(2) Wochenschr. f. Brau., 1888, p. 937.

une substance d'un blanc jaunâtre, facilement soluble dans l'eau bouillante. Lerner croit l'avoir isolée sous la forme d'un corps cristallisé, en prismes blancs rhomboédriques, auquel il a donné le nom *d'acide amer du houblon* et assigné la formule $C^{32} H^{50} O^7$. Cet acide amer de Lerner semble identique à *l'acide lupulique* que M. Bungener (1) a extrait du lupulin. D'après ce dernier auteur, le principe amer actif du houblon est le produit de l'oxydation de l'acide lupulique.

Dosage des principes amers. Dans toutes les méthodes qui ont été proposées pour le dosage des principes amers du houblon, on se sert de l'éther de pétrole pour l'extraction des résines molles, tandis que la totalité des résines, les résines molles, ainsi que la résine dure, sont extraites par l'éther sulfurique. Voici la description sommaire des principales méthodes :

Méthode de Briant et Meacham (2). — Cette méthode consiste à traiter 4 grammes de houblon dans l'appareil de Soxhlet pendant 24 heures avec de l'éther de pétrole bouillant à 50°. L'extrait est filtré dans un flacon taré et évaporé lentement à sec. Le résidu est ensuite desséché à l'étuve jusqu'à poids constant. On obtient ainsi le poids des résines molles du houblon.

Méthode de Siller (3). — Elle diffère de la précé-

(1) Bull. Soc. Chimiq. **45**, p. 487 ; 1886.

(2) Journ. of the Inst. of Brew., **3**, p. 233 ; 1897.

(3) Zeitschr. f. d. Unt. Nahrung.v.-und Genussm. **18**, p. 241.

dente en ce que le traitement par les deux solvants a lieu sur des échantillons différents du même houblon. Ce que dissout l'éther sulfurique représente alors les résines totales et la différence entre ces résines et les résines molles donne la résine dure. En outre, comme l'éther de pétrole dissout de la cire en même temps que les résines, le résidu des résines est repris par l'alcool méthylique.

Méthode volumétrique de Lintner (1).— Elle est basée sur le principe que les deux résines amères se comportent en solution comme des acides.

On introduit 10 grammes de houblon dans un ballon jaugé de 500 cc., qui porte une deuxième marque à 505 cc. Le ballon est en relation avec un réfrigérant ascendant ; on ajoute 350 cc. d'éther de pétrole bouillant à 30-50°, et l'on chauffe pendant 8 heures. On refroidit à 17°5 et l'on ramène à 505 cc.; on agite énergiquement et l'on filtre. Cent centimètres cubes de filtrat sont additionnés de 80 cc. d'alcool et de 10 gouttes de phénolphtaléine, et l'on titre avec de l'alcali décimal. Dans un essai de contrôle, on établit l'acidité de l'éther de pétrole additionné d'alcool. Le nombre de centimètres cubes d'alcali employé multiplié par 0.04, donne la quantité de résine dans 100 cc.

Il est évident que l'extraction des résines est d'autant plus complète que le houblon est plus finement broyé. Le séchage des résines à des températures supérieures à 80° est à éviter. La nature de l'éther de

(1) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, 21, p. 407.

pétrole influe également sur le résultat de l'analyse ; MM. Bartar et Tradley (1) recommandent de n'employer que les portions de l'éther de pétrole du commerce qui passent au-dessous de 45°.

Les acides amers. — Les deux résines α et β placées dans des conditions convenables laissent déposer des produits cristallisés qui ont été désignés par M. Hayduck sous le nom d'*acides amers* α et β , suivant la résine dans laquelle on les rencontre.

L'acide β . — Lermer (*loc. cit.*) a également décrit un acide amer, dont il a déterminé la composition par l'analyse de son sel de cuivre et M. Bungener (*loc. cit.*) a isolé du lupulin un acide auquel il a donné le nom d'*acide lupulique* et attribué la formule $C^{50}H^{70}O^8$, ces corps doivent être considérés comme identiques à l'*acide amer β* .

M. Bungener a obtenu son acide lupulique en traitant le lupulin à plusieurs reprises par l'éther de pétrole à la température ordinaire, évaporant la solution, reprenant le résidu par l'éther de pétrole et faisant cristalliser enfin dans l'alcool et dans la ligroïne ; le produit se sépare dans ce dernier dissolvant sous la forme de prismes rhomboïdaux fusibles à 92-93°, insolubles dans l'eau, facilement solubles dans les alcalis, dans l'alcool, dans l'éther, dans le benzène, moins salubres dans la ligroïne. Les dissolutions possèdent une saveur amère très prononcée. Le sel de cuivre $C^{60}H^{68}CuO^8$ est une poudre cristalline verte qui se forme

(1) Journ. of. Indus. and Eng. Chemistry **4**, n° 3.

par l'action de l'acétate de cuivre sur une solution étherée de l'acide ; c'est cette combinaison qui a été analysée par Lermer et dont il a retiré son acide amer. Les acides de Lermer et de Bungener doivent être considérés comme identiques.

MM. Lintner et Barth (1) ont repris l'étude de cet acide, qu'ils ont préparé d'après le procédé de Bungener. Obtenu par cette méthode, l'acide retient énergiquement une substance cireuse qu'on parvient à éliminer par des cristallisations répétées dans l'alcool méthylique ; le corps pur qu'il ont ainsi obtenu fond à 92°. La formule nouvelle, $C^{25}H^{30}O^4$ que lui assignent les auteurs renferme 1 atome d'hydrogène de plus que celle de Bungener.

L'acide α ou *humulone* a été d'abord signalé par Hayduck, qui l'a obtenu cristallisé en décomposant par un acide la combinaison plombique de cette résine. Il a été préparé également par MM. Seyffert, Lintner et Bungener. M. Barth (2) l'a retiré des eaux-mères de cristallisation de l'acide β sous la forme de petits cristaux rhomboédriques ; il lui a assigné la formule $C^{12}H^{20}O^3$. L'acide α est fusible à 54-56° et soluble dans tous les dissolvants ordinaires, excepté dans l'eau ; la dissolution alcoolique est franchement amère.

Bamberger et Landsiedl (3) ont indiqué un nou-

(1) Ber. d. deutsch. chem. Ges., **31**, p. 2023 ; 1898.

(2) Zeitschr. ges. Brauw., **23**, p. 509 ; 1900.

(3) Zeitschr. ges. Brauw. **25**, p. 461 ; 1902.

veau mode de préparation de l'acide α et sont arrivés aux mêmes résultats principaux que ceux qui ont étudié la question avant eux. D'après eux, l'acide α correspond à la formule $C^{20}H^{28}O^5$ ou $C^{20}H^{30}O^5$.

En 1904 Lintner et Schnell (1) ont repris l'étude de l'acide α et ils rapportent quelques observations sur la combinaison plombique de cet acide. La résine α aussi bien que l'acide α donnent avec une solution alcoolique d'acétate de plomb un précipité jaune soufre, qui est soluble dans un grand excès de précipitant.

O. Mohr (2) étudiant les acides amers du houblon a montré que l'acide β est beaucoup moins stable que l'acide α . Les deux acides entrent en réaction avec le chlorure d'or qu'ils réduisent. Avec l'acide α la réduction est instantanée, et le chlorure d'or est transformé en or colloïdal d'un rouge pourpre magnifique ; cette réaction est d'une sensibilité extrême. L'acide β réduit également le chlorure d'or, mais beaucoup plus lentement que l'acide α .

Le houblon renferme toujours au bout d'un certain temps les deux acides et leurs produits d'oxydation (résines). L'amertume donnée à la bière par le houblon est due à ces différents composés.

Le tannin. — Il existe dans le houblon dans la proportion de 2 à 6 pour cent; on le rencontre surtout dans les bractées ; on n'en trouve que très peu dans le lupulin. On l'obtient en traitant successivement les

(1) Zeitschr. ges. Brauw., **27**, p. 666 ; 1904.

(2) Jahrbuch. V. L. B. **16**, p. 516 ; 1913.

cônes du houblon par l'éther, par l'alcool absolu et enfin par l'alcool à 70°. On additionne cette dernière dissolution d'acétate de plomb, qui donne d'abord naissance à un précipité de couleur rougeâtre, le phlobaphène, puis à un précipité jaune qui contient le tannin ; ce dernier précipité est décomposé par l'hydrogène sulfuré. On reprend ensuite par l'alcool étendu, pour se débarrasser du sulfure de plomb, on évapore la solution hydroalcoolique et on purifie finalement le produit en le dissolvant dans l'éther acétique.

En 1876 Etti (1) a reconnu qu'à côté du tannin les cônes de houblon renferment un autre corps, très voisin, le phlobaphène et qui pour Etti proviendrait de la combinaison de 2 molécules de tannin avec élimination d'une molécule d'eau. Par une méthode assez compliquée, Etti a réussi à séparer le tannin du phlobaphène en profitant de ce que ce dernier corps est insoluble dans l'éther acétique, qui dissout facilement le premier.

Hayduck (2), qui a longuement étudié le tannin du houblon, a constaté que, contrairement aux assertions d'Etti, ce corps est fixé par la peau en poudre ; il a fondé sur cette propriété une méthode de dosage du tannin dans le houblon et dans la bière.

Voyons maintenant quel est, d'après Hayduck, le rôle du tannin du houblon dans la fabrication de la

(1) Liebig's Annalen, **180**, pp. 223, 231.

(2) Wochenschr. f. Brauerei, 1894, p. 409.

bière. On a pendant longtemps attribué ce rôle à la propriété que possède le tannin de précipiter l'albumine, et on pensait que cette précipitation du moût contribuait à la stabilité de la bière.

Pour Hayduck, dans l'action du houblon, il faut distinguer ce qui revient au tannin de ce qui revient au phlobaphène. Si l'on fait une macération d'orge dans l'eau, à froid, qu'on la porte à l'ébullition et qu'on la filtre, on obtient une solution de matière albuminoïde, non coagulable, sur laquelle on peut, comme l'a fait Hayduck, étudier l'action du tannin du houblon et du phlobaphène.

Introduit dans cette solution, le tannin donne un précipité qui se redissout à l'ébullition et se sépare par refroidissement. La liqueur filtrée renferme encore du tannin, car elle donne une réaction avec le perchlorure de fer ; elle renferme aussi de la matière albuminoïde, car elle précipite par l'addition du tannin. On arrive ainsi à la conclusion que la matière albuminoïde soluble de l'orge fournit avec le tannin du houblon une combinaison peu soluble dans l'eau froide et très soluble dans l'eau bouillante.

Si l'on fait un essai analogue avec le phlobaphène, on obtient aussi un précipité ; mais la combinaison produite est tout à fait insoluble, de sorte qu'on pourrait avec un excès de phlobaphène, arriver à la précipitation complète de toute la matière albuminoïde, chose impossible avec le tannin.

Ces recherches de Hayduck l'ont amené à la conclusion que le rôle du tannin comme précipitant des

matières azotées est très minime. Hyde avait déjà remarqué que l'ébullition seule, sans houblon, précipite autant de matières albuminoïdes que lorsqu'on ajoute du houblon ; et Hayduck est d'accord avec Briant et Meacham pour constater que, s'il y a une différence en faveur du houblonnage, elle est presque insignifiante.

Si la comparaison des quantités de matière azotée contenues dans un même moût bouilli seul ou avec du houblon ne conduit qu'à des différences minimales, il n'en est plus de même si l'on considère la qualité de la matière azotée. Le houblon renferme, en effet, des matières azotées solubles, qui peuvent se dissoudre dans le moût sans réagir sur le tannin et sans subir aucune altération par l'ébullition ; ces matières azotées représentent un élément nutritif important pour la levure et, en se dissolvant, elles se substituent à la matière azotée du moût coagulée par l'ébullition, de sorte que la quantité de l'azote total du moût reste à peu près constante tandis que sa qualité se trouve profondément modifiée.

Un autre fait important, c'est que le tannin qui n'a aucune influence sensible sur la saveur de la bière, joue un rôle considérable dans sa coloration. Plus on houblonne fortement, plus la bière est pâle, et cela s'explique par la raison qu'on fait disparaître une proportion plus forte de matière albuminoïde, à laquelle il faut attribuer la coloration du moût pendant l'ébullition.

Les recherches faites par M. J. Heron (1) en 1896, ont fourni des résultats qui confirment en partie les idées de Hayduck, mais qui en diffèrent sur plusieurs points. Ces recherches ont fait faire un pas très important aux connaissances sur le houblon.

Heron a modifié la méthode de dosage du tannin dans le houblon indiqué par Hayduck, considérant qu'elle peut conduire à des erreurs assez graves. L'absorption du tannin par la peau en poudre, n'échappe pas à la critique, parce que le pouvoir absorbant change quand on passe d'un échantillon de peau à un autre, et surtout parce que la peau absorbe aussi autre chose que le tannin.

M. A. Chapman (2) qui a également étudié le houblon a proposé la méthode suivante de dosage : Dix grammes de houblon sont placées dans une fiole jaugée de 508 cc.; on ajoute 400 cc. d'eau distillée bouillante, et on laisse macérer pendant 2 heures au bain-marie bouillant. On refroidit ensuite à 15° C et on amène au trait de jauge avec de l'eau distillée. On filtre et on évapore doucement au bain-marie 50 cc. dans un petits vase de Bohème. Lorsque le volume est réduit à 15 cc., on refroidit et on ajoute 50 cc. d'une solution aqueuse saturée de sulfate de cinchonine.

Après 1-2 heures de repos à froid, on recueille le précipité sur de l'amianté dans un creuset de Gooch taré, les premières portions étant filtrées sans aspira-

(1) Journ. of the Inst. of Brew, **2**, p. 162.

(2) Jour. of the Inst. of Brew, 1907, p. 646.

tion. On essore le précipité à la trompe jusqu'à ce qu'il commence à se fendiller ; on le sèche à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant. Ce poids multiplié par 0.6 donne le tannin contenu dans un gramme de houblon.

Nous avons étudié dans ce qui précède les éléments essentiels du houblon et indiqué ce qu'on sait sur leur rôle. On y rencontre encore d'autres substances qui, sans être aussi importantes, ne méritent pas moins d'attirer l'attention.

On a vu précédemment que les matières azotées qu'apporte le houblon jouent un rôle très important comme aliments de la levure et Behrens les considère comme plus facilement assimilables que celles qui proviennent du malt. Behrens (1) a également observé que le houblon apporte dans le moût une acidité notable, due principalement à de l'acide citrique mélangé à une petite quantité d'acide malique.

Enfin Brown et Morris ont montré que le houblon renferme de l'amylase analogue à celle du malt ; ce fait capital n'est pas limité au houblon, l'amylase se retrouvait dans presque tous les végétaux, puisque, à un moment donné, ils renferment de l'amidon dans leurs cellules. En Angleterre, on ajoute du houblon sec et effeuillé dans la bière en fûts et, par l'amylase qu'il apporte, on transforme en maltose les plus attaquables des dextrines. Ce maltose fermente et produit une fermentation secondaire active ayant pour effet de

(1) Wochenschr. für. Brauerei, **13**, p. 802; 1896.

donner à la bière un mousseux qu'elle n'aurait pas sans cela. En même temps on donne à la bière un arôme fin de houblon, car on choisit toujours pour cette opération les houblons les plus fins.

Conservation du houblon. — Le houblon s'altère assez rapidement à l'air. Aussitôt après la récolte, il renferme en moyenne 70-75 pour cent d'eau et cette humidité le rend très altérable et cause très vite l'échauffement des cônes et une grande diminution de qualité. Il est donc nécessaire de sécher le houblon aussitôt que possible après la récolte.

Cette opération se fait parfois à l'air libre dans des greniers bien aérés, mais le plus souvent elle s'effectue dans des tourailles.

Une touraille à houblon se compose en principe d'une bâtisse portant en bas un foyer, à la hauteur du grenier un plateau sur lequel on étale le houblon et terminée par une cheminée. On a perfectionné beaucoup ces tourailles en employant comme plateaux des toiles roulantes en crins de cheval, ce qui évite l'effeuillement des cônes, en substituant le chauffage à l'air chaud, au chauffage à feu direct, et en adaptant plusieurs plateaux superposés pour mieux régler le séchage. L'opération dure une douzaine d'heures et le houblon séché ne contient plus que 8-10 pour cent d'eau.

Le houblon séché est encore assez altérable et il subit pendant sa conservation des transformations qui en diminuent la valeur ; cette question, par suite de

la grande importance qu'elle présente, a donné lieu à de nombreux travaux.

Les transformations que subit le houblon pendant sa conservation sont, soit biologiques, soit chimiques. Les transformations biologiques résultent de la présence des moisissures et des bactéries qui peuvent se développer abondamment, malgré les propriétés antiseptiques des résines. En 1896, Behrens a étudié ces organismes et en a isolé plusieurs qui agissent sur l'apparence extérieure et l'arome du houblon.

Il faut attribuer un rôle très important à quelques microbes qui produisent l'échauffement dit spontané du houblon et agissent avec une énergie considérable, lorsque le houblon est encore humide et se trouve fortement tassé.

En relation directe avec ces transformations, on trouve celles que subissent les substances chimiques contenues dans le houblon, soit par l'action des microbes, soit sous l'influence de la température et des agents chimiques comme l'oxygène de l'air. Ces transformations portent sur les corps protéïques, l'huile essentielle, les acides amers, les résines et le tannin.

Si l'on se rapporte aux transformations étudiées expérimentalement que subit le houblon, on arrive à la conclusion que le froid est le moyen le plus efficace pour arrêter ces transformations biologiques et chimiques. Lorsque l'humidité fait défaut, l'activité des microbes est faible à basse température et la dé-

composition chimique des résines est minime, car les réactions chimiques sont d'autant plus lentes que la température est plus basse.

Il faut donc, pour éviter autant que possible que le houblon se détériore, le placer suffisamment sec à basse température dans une atmosphère exempte d'oxygène et à l'abri de la lumière qui le décolore.

En Angleterre, Briant et Meacham ont étudié l'action du froid, et ils ont constaté que ce système est excellent ; la température qu'ils ont adoptée est de 2° à 3° C.

Pour réduire le contact avec l'oxygène, on emballe le houblon dans des sacs de forte toile, qu'on comprime énergiquement à la presse ; on utilise aussi des cylindres en tôle.

On a essayé la conservation dans le vide ou les gaz inertes, mais cette méthode ne paraît pas très pratique et ses résultats sont discutés.

Une pratique très répandue est le soufrage du houblon. Cette opération consiste à brûler du soufre dans la touraille, ordinairement au moment du séchage. Elle est avantageuse pour la conservation du houblon et elle rend la couleur plus claire et plus uniforme. Par contre, le soufrage a pour l'acheteur l'inconvénient de masquer souvent des défauts de couleur et de qualité.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES

SUR LES

PROPRIETES ANTISEPTIQUES DU HOUBLON

CHAPITRE PREMIER

Les connaissances générales en brasserie ont fait des progrès considérables qui ont modifié la manière de voir et les opérations pratiques d'une façon très remarquable. Mais il y a un domaine dans lequel il ne s'est produit que peu de changements : ce qu'on sait de l'emploi du houblon n'a pas beaucoup progressé et on reste à peu près au même point que la génération qui nous a précédés. Ce n'est pas qu'on ait méconnu l'intérêt considérable de cette question ; mais on y rencontre des difficultés particulièrement grandes.

Au point de vue purement scientifique, la connaissance du houblon a certainement fait des progrès considérables et ces progrès se traduiront, sans doute, par de grands avantages pratiques ; mais jusqu'à pré-

sent, les connaissances sont trop peu avancées pour qu'on puisse songer à les utiliser pratiquement.

L'une des propriétés les plus importantes du houblon est son pouvoir conservateur. La durée de conservation de la bière, qui est d'une extrême importance pour le brasseur, dépend surtout des propriétés antiseptiques du houblon, et pourtant on ne sait que très peu de choses sur les relations qui existent entre la stabilité de la bière et les diverses qualités du houblon. Chaque brasseur est disposé à admettre que les propriétés antiseptiques du houblon varient beaucoup suivant son origine, sa qualité et son âge ; mais actuellement il n'y a aucun moyen, même approximatif, de mesurer la valeur relative de ces propriétés antiseptiques. On emploie encore presque exclusivement les vieilles méthodes d'évaluation empiriques qui représentent probablement un guide plus ou moins sûr, mais certainement très grossier et sujet à de graves erreurs.

Avant de pouvoir réaliser un progrès dans cette voie, il est nécessaire d'avoir des connaissances plus exactes sur les propriétés antiseptiques du houblon, et sur les méthodes expérimentales, employées jusqu'ici à leur détermination. Le sujet est très difficile car toute méthode destinée à étudier l'action toxique d'un antiseptique doit nécessairement se baser sur des expériences portant sur des organismes vivants ; or, lorsque la vie entre comme facteur principal dans une recherche expérimentale, il est notoirement difficile d'arriver à des résultats simples et certains.

Les travaux de Harris Morris (1), de Reichard (2), de Briant et Meacham (3), de Chapman et Burgess (4), de W. Richardson (5), de Schönfeld (6), de Heron (7) et de G. Barth (8) ont éclairé utilement cette question ; mais plus récemment A.-J. Brown (9) et de deux de ses collaborateurs, B. Ward et D. Clubb, dans une étude sur une méthode de mesure des propriétés antiseptiques du houblon, ont rapporté des observations très utiles.

Avant d'exposer nos expériences, nous allons indiquer brièvement les résultats obtenus par A.-J. Brown et ses collaborateurs étant donnée l'importance de leurs méthodes de travail et de leurs conclusions.

Dans leur travail sur la mesure des propriétés antiseptiques du houblon, ils ont employé comme organisme vivant une bactérie en longs filaments que l'un d'eux a isolée d'une bière acide et qui possédait plusieurs des caractères morphologiques du *Saccharo-bacillus Pastorianus* de Van Laer. Ils ont d'abord

(1) Transactions of the Laboratory Club, **2**, p. 26 ; **3**, p. 24.

(2) Zeitschr. für das ges. Brauw., 1894, p. 265.

(3) Jour. Fed. Inst. of Brew, **2**, p. 408 ; 1896.

(4) Brewer's Journal, **32**, p. 328 ; 1896.

(5) Journ. Fed. Inst. of Brew., **4**, p. 128 ; 1898.

(6) Wochenschr. für Brauerei, 1898, p. 292 et 324 ; 1899, p. 665.

(7) Diary of the Brewing Room 1899.

(8) Zeitschr. für das ges. Brauw., **24**, p. 333 ; 1901.

(9) Journ. Fed. Inst. of Brew, **16**, p. 641 ; 1910 ; **19**, p. 261, 1913.

pensé qu'elle lui était identique, mais il ont été conduits plus tard à la considérer comme différente, bien que très voisine et capable de produire aussi de l'acide lactique; ils ont désigné ce microbe comme *Bact.* « X ».

Ce qui a attiré plus spécialement leur attention sur ce microbe, c'est qu'il possède deux caractères distinctifs très marqués : 1° il possède un très grand pouvoir de multiplication lorsqu'on le cultive dans un milieu liquide convenable ; 2° il est extrêmement sensible à l'influence toxique de l'extrait de houblon. Le microbe se développe abondamment dans la plupart des milieux liquides qui conviennent aux bactéries lactiques et particulièrement dans le moût non houblonné clair et dans la macération de malt préparée à froid. Dans ces milieux, la multiplication est très rapide, et les tubesensemencés faiblement et placés à 30° se peuplent abondamment en 12 heures. D'autre part, le microbe refuse de se développer dans tous les moûts ordinaires houblonnés.

Ces propriétés ont conduit ces auteurs à envisager la possibilité d'utiliser ce microbe pour étudier les propriétés antiseptiques du houblon, l'emploi d'un être vivant étant, comme nous l'avons dit, une nécessité dans toute recherche de ce genre.

Il est inutile de rapporter toutes leurs expériences et nous passons maintenant à la description des résultats essentiels obtenus par les auteurs.

Pour préparer un extrait de houblon convenable, ils ont employé la méthode d'extraction par l'eau en faisant infuser un échantillon moyen de 5 grammes

de houblon dans 500 centimètres cubes d'eau distillée à 100° dans un stérilisateur à vapeur et en filtrant au bout d'une heure.

Comme milieu de culture, ils se sont servi d'une macération de malt préparée à froid. On fait macérer pendant deux heures du malt pâle moulu avec son poids d'eau distillée ; le liquide filtré est porté à l'ébullition pendant une heure ou davantage ; il est filtré de nouveau, refroidi et amené avec de l'eau à la densité 1.030. On stérilise ce liquide pendant dix minutes au maximum dans un stérilisateur ordinaire à vapeur, après l'avoir réparti, par portions de 10 centimètres cubes, dans des tubes à essai.

Pour faire une expérience avec du houblon, ils introduisaient à l'aide d'une pipette des volumes croissants de l'extrait type dans une série de tubes contenant la macération de malt et ils les stérilisaient dans la vapeur pendant dix minutes. Après refroidissement, ils ensemençaient chaque tube avec une goutte de culture de Bact. « X » et ils regardaient ce que les tubes étaient devenus au bout de dix-huit heures de séjour à l'étuve à 30°.

En opérant avec des échantillons de houblons d'Orégon 1908 de qualité moyenne et de Mid-Kent 1903 de qualité moyenne, ils ont trouvé que le volume minimum d'extrait de houblon capable d'empêcher le développement du microbe, ou ce qu'il ont appelé la valeur « neutre » est d'environ 1 cc. 2 pour le houblon d'Orégon et 2 cc. 8 pour le houblon de Mid-Kent ; au-

trement dit, les pouvoirs antiseptiques des deux extraits sont dans le rapport de 2.5 à 1.

Ils ont examiné également des houblons d'Orégon et de Mid-Kent de la récolte de 1909 et ils ont trouvé que le pouvoir antiseptique des premiers était trois fois plus grand que celui des seconds.

Ils ont fait plusieurs séries d'expériences avec des houblons de différentes provenances, de qualité et d'âge variés, et ils ont obtenu les résultats suivants :

	Valeur neutre
East Kent Goldings 1909, bonne qualité.	0 cc. 9
East Kent 1909, qualité moyenne	1 cc. 3
Farnhams 1909, très bonne qualité	0 cc. 75
Mid-Kent, bonne qualité	1 cc. 3
Orégon 1909, très bonne qualité	0 cc. 2

En représentant par 100 la toxicité d'un houblon dont la valeur « *neutre* » est de 0.25 dans les conditions types d'expérimentation, on trouve pour la valeur toxique relative des houblons dans les expériences qui précèdent :

- Orégon, 90 ;
- Farnhams, 33 ;
- East Kent Gold., 28 ;
- East Kent, 19 ;
- Mid Kent, 19.

Il est intéressant de noter que l'appréciation des houblons ci-dessus par les méthodes empiriques ordinaires les place à peu près dans le même cadre que ci-

dessus, de telle sorte que ces méthodes sont justifiées et confirmées par la méthode de détermination du pouvoir antiseptique.

Un grand nombre d'expériences conduites de cette manière avec des houblons de diverses qualités a semblé aux auteurs indiquer qu'on pouvait mesurer comparativement de cette manière avec une exactitude suffisante les propriétés antiseptiques variables des houblons, pourvu qu'on opère toujours dans les mêmes conditions. Ceci veut dire que les **détermina-**tions pour être strictement comparables doivent être faites en même temps en employant des cultures de Bact. « X » du même âge et provenant du même milieu.

Ils ont également confirmé par cette méthode les propriétés antiseptiques relatives des résines dures et molles du houblon. Il ne semble pas douteux que les propriétés antiseptiques du houblon soient dues principalement, sinon entièrement, à ces résines et que les résines molles qui sont solubles dans l'éther de pétrole possèdent le pouvoir antiseptique le plus élevé. Ils ont trouvé que les résines molles sont 50 fois plus toxiques pour le Bact. « X » que les résines dures et qu'après extraction des résines, le houblon ne conserve plus aucune propriété antiseptique.

Après un certain nombre d'expériences, ils ont trouvé, bien qu'il puisse y avoir quelque relation entre la teneur en résines molles d'un houblon et sa valeur toxique, qu'il n'y a pas proportionnalité directe entre les deux chiffres. Il s'ensuit que la teneur en résines

molles ne peut pas être considérée comme une mesure du pouvoir toxique d'un houblon.

Ils ont également montré que l'un des ferments de maladie de la bière les plus répandus, le *Saccharobacillus*, est influencé par les propriétés antiseptiques du houblon de la même manière que le Bactérium X.

En comparant la puissance inhibitrice des corps toxiques de l'extrait de houblon avec celle de quelques antiseptiques bien connus et en employant le Bact. «X» comme organisme d'épreuve, Brown et ses collaborateurs ont trouvé que le pouvoir antiseptique du houblon est beaucoup plus fort que celui d'antiseptiques notoires, tels que l'acide phénique, l'acide salicylique ou le metabisulfite de potassium.

CHAPITRE II

A la suite des importants résultats obtenus par A.-J. Brown et ses collaborateurs B. Ward et D. Clubb, nous nous sommes proposé dans cette étude de généraliser leurs expériences et de préciser les conditions dans lesquelles le houblon manifeste ses propriétés antiseptiques.

Avant d'entrer dans l'exposé de nos expériences, nous allons dire quelques mots sur les organismes vivants, les milieux de culture et les variétés de houblons que nous avons employés étant donné que, dans l'étude des antiseptiques, tous ces facteurs jouent un rôle important.

Comme être vivants, nous nous sommes servi dans nos expériences du *Bacillus subtilis*, du *Bacillus coli F*, des collections de l'Institut Pasteur, du *Bactérium* « X » provenant de la collection de l'Université de Birmingham et que Brown a employé dans ses expériences. Pour contrôler les résultats obtenus en opérant avec les trois bacilles précités, nous avons aussi employé une bactérie, après l'avoir isolée d'une bière infectée, et que nous croyons être un bacille lactique. Nous avons négligé de l'identifier, ceci ne présentant pas d'importance pour nos expériences.

Comme milieux de culture, nous avons employé

l'eau de levure, le bouillon de viande, l'eau de touraillons et le moût de bière.

Pour préparer l'eau de levure, on faisait bouillir pendant 20-25 minutes 25 grammes de levure sèche dans un litre d'eau distillée et, après filtration, on ajoutait 3.0 grammes pour cent de sucre.

Le bouillon de viande a été obtenu en dissolvant 10 grammes d'extrait de viande de Liebig dans un litre d'eau distillée, dans lequel on ajoutait 10 grammes de peptone Chapoteaut et 5 grammes de chlorure de sodium, et on chauffait à 120° pendant 20-25 minutes. Pour se débarrasser du précipité qui s'était formé et de tout autre trouble on filtrait et on neutralisait à chaud avec de la soude normale. Pour connaître la quantité d'alcali à ajouter, on dosait d'abord 10 centimètres cubes de milieu avec de la soude décinormale, en présence de phénol-phtaléine ; ensuite on ajoutait 1.0 gr. pour cent de sucre.

On préparait l'eau de touraillons en faisant bouillir 15 grammes de radicelles d'orge germé, séchées pendant l'opération du touraillage, avec un litre d'eau distillée pendant 15-20 minutes. Après filtration, on faisait le collage avec de l'albumine d'œuf. Au liquide clair on ajoutait 0.7 gr. pour mille de phosphate d'ammoniaque et 3.0 gr. pour cent de sucre.

Le moût de bière a été préparé par la méthode habituelle de laboratoire, c'est-à-dire par la saccharification du malt.

Pour obtenir des milieux d'une composition constante nous avons toujours opéré dans les mêmes con-

ditions, en employant les mêmes matières premières, dont nous avons fait dès le début une provision suffisante, et de l'eau distillée au lieu d'eau ordinaire.

Dans nos expériences nous avons employé les variétés suivantes de houblons, frais et de bonne qualité : Volhyrie Prima de Pologne, Pacifics Americain, Alsace Bas-Rhin Prima, Saaz Ia Domain, Saaz Ia Ia Domain, de la récolte de l'année 1921, et Alsace Bas-Rhin Prima, Bourgogne, Aucha Ia Ia, et Saaz Ia Ia de la récolte de 1922.

Pour préparer un extrait de houblon convenable nous avons utilisé la méthode d'extraction par l'eau, employée par A.-J. Brown, c'est-à-dire en faisant infuser une échantillon moyen de 5 grammes de houblon dans 500 centimètres cubes d'eau distillée à 100° dans un autoclave et filtrant au bout d'une heure.

*
* *

En partant du fait bien connu que les bactéries sont considérablement gênées dans leur développement lorsque le milieu est acide, et cela d'autant plus que l'acidité est plus forte, nous nous sommes servi dans nos premières expériences des milieux de culture décrits ci-dessus, mais préalablement neutralisés avec de la soude normale, en employant comme indicateur a phénolphtaléine.

Les expériences ont été conduites de la manière suivante : on introduisait 10 centimètres cubes de l'un des milieux de culture dans une série de 11 tubes à essai stérilisés. Le premier tube servait de témoin,

tandis que dans les autres on introduisait à l'aide d'une pipette graduée des quantités croissantes d'un extrait type de houblon, variant de 0.25 à 5.0 centimètres cubes. Après stérilisation à 100° pendant une demi-heure et après refroidissement, tous les tubes étaientensemencés avec une goutte d'une culture jeune de l'une des bactéries que nous avons mentionnées plus haut. On examinait ce que les tubes devenaient après un séjour de 24 heures à l'étuve à 35°, température généralement favorable au développement de la plupart des bactéries.

Nos premières expériences ont été faites avec le *Bac. subtilis*, en employant comme milieu de culture l'eau de levure neutralisée et les extraits de houblons de Pacific, Alsace Bas-Rhin Prima et Saaz Ia Ia Do-main, tous de la récolte de l'année de 1921.

En opérant dans les conditions décrites ci-dessus et en employant un extrait à la dose de 5 grammes de houblon pour 500 centimètres cubes d'eau distillée, on observe après un séjour de 24-36 heures à l'étuve à 35°, un développement du *Bac. subtilis* dans tous les tubes. Pour empêcher la multiplication de ce bacille, on a dû employer un extrait plus concentré, contenant 2.5 grammes de houblon pour 100 centimètres cubes d'eau distillée ; dans ce cas le développement s'arrête après 48 heures dans le tube contenant **2.0-2.3 centimètres cubes** de cet extrait pour 10 centimètres cubes d'eau de levure.

En répétant les mêmes expériences, mais en employant comme milieu de culture le bouillon de

viande neutralisé, le développement du *Bac. subtilis* s'arrête après 48 heures dans le tube contenant 2.5-2.8 centimètres cubes d'extrait de houblon à la concentration de 2.5 grammes pour 100 centimètres cubes d'eau distillée. Dans le cas où l'on emploie l'eau de touraillons comme milieu de culture, la quantité d'extrait à 2.5 gr. pour cent qui empêche le développement varie de 1.6 à 2.0 centimètres cubes ; tandis que pour le moût de bière c'est 2.2-2.5 centimètres cubes d'extrait à 2.5 gr. pour cent.

On a recommencé les mêmes expériences en employant les extraits de différentes variétés de houblon et on a obtenu des chiffres comparables aux précédents. Pour le même bacille et pour le même extrait les chiffres varient généralement suivant le milieu de culture qu'on emploie.

Pour vérifier les résultats obtenus, nous avons répété les expériences décrites ci-dessus, en employant les mêmes milieux de culture et les mêmes extraits de différentes variétés de houblon ; mais nous avons remplacé le *Bac. subtilis* par le *Bac. coli F*, des collections de l'Institut Pasteur.

En faisant les expériences avec cet organisme, nos premiers résultats se sont confirmés. En effet, en employant même un extrait contenant 5 grammes de houblon pour 100 centimètres cubes d'eau et en ajoutant 5 centimètres cubes de cet extrait dans 10 centimètres cubes d'un milieu neutralisé, nous ne sommes pas arrivés à empêcher le développement de ce bacille.

D'ailleurs nous n'aurions pas pu empêcher sa multiplication, même en ajoutant des quantités plus élevées d'extrait de houblon. Nous avons en effet constaté que, en ensemençant le *Bac. coli F* dans un extrait contenant 2.5 grammes de houblon pour 100 centimètres cubes d'eau, dans lequel on ajoute seulement 2 grammes pour cent de sucre, le développement de cet organisme se trouvait fort peu entravé.

Donc, dans les conditions de nos expériences, le pouvoir antiseptique du houblon est très faible ou presque nul.

Après avoir constaté ces résultats qui se trouvent en contradiction avec ceux de A.-J. Brown, nous avons supposé que peut-être le *Bac. subtilis* et le *Bac coli F* ne se prêtaient pas à l'étude des propriétés antispétiques du houblon, et nous avons employé comme organisme vivant le *Bactérium* « X » avec lequel Brown a fait ses expériences.

En employant les mêmes milieux de culture que dans les expériences précédentes, mais en ensemençant avec une goutte d'une culture jeune de *Bact.* « X », la multiplication est arrêtée dans le tube contenant 4.2-4.8 d'un extrait à 1 gramme de houblon pour 100 centimètres cubes d'eau. On voit qu'il faut encore des quantités beaucoup plus grandes d'extrait que celles trouvées par Brown, pour empêcher le développement du *Bact.* « X ».

Les faits nous fournissant de nouveau des chiffres différents de ceux de A.-J. Brown, nous nous sommes

proposé de répéter quelques-unes de ses expériences afin de nous assurer que nous avons opéré dans de bonnes conditions. Nous avons donc employé comme milieu de culture le moût de bière préparé par la méthode habituelle des laboratoires, mais que nous nous sommes abstenu de neutraliser, et comme organisme vivant le *Bact.* « X ».

Dans ces conditions nous avons obtenu des chiffres comparables à ceux de Brown ; en effet des quantités très faibles d'un extrait de houblon à 1 gr. pour cent suffisaient pour empêcher le développement du *Bact.* « X », même après un séjour de celui-ci de 96 heures à l'étuve.

Ces dernières expériences nous ont conduit à penser qu'il doit exister des relations étroites entre le pouvoir antiseptique du houblon et la réaction du milieu.

En répétant les expériences déjà faites, en employant les mêmes bacilles, les mêmes variétés de houblon, les mêmes milieux de culture, mais cette fois sans neutraliser ceux-ci, il nous a fallu des quantités plus faibles d'extrait de houblon pour empêcher le développement des bacilles, que dans le cas où nous avons employé des milieux neutralisés. Autrement dit, l'extrait de houblon est beaucoup plus antiseptique dans un milieu acide que dans un milieu neutre.

En constatant que la réaction du milieu influe beaucoup sur le pouvoir antiseptique du houblon, nous avons fait un certain nombre d'expériences, dans lesquelles nous avons mesuré exactement la réaction du

milieu, en déterminant le nombre d'ions hydrogènes libres (les seuls qui interviennent) par la méthode colorimétrique de Michaélis (1). Les expériences ont été conduites de la façon suivante :

On préparait exactement de la même manière deux séries de 11 tubes à essai; chaque tube contenait 10 centimètres cubes d'un milieu de culture non neutralisé. Le premier tube de chaque série servait de témoin, tandis que dans les autres on ajoutait des quantités croissantes d'un extrait de houblon à 1 gr. pour cent variant entre 0.25 et 5.0 centimètres cubes. Pour avoir le même volume dans tous les tubes on les complétait avec de l'eau distillée jusqu'à 15 centimètres cubes.

Les tubes ainsi préparés étaient stérilisés dans un autoclave à 100° pendant 30 minutes. Après refroidissement on ensemençait une seule série de tubes avec une goutte d'une culture jeune d'un bacille. On plaçait ensuite les deux séries de tubes à l'étuve à 35° et on suivait le développement du bacille dans la série ensemencée, en examinant les tubes toutes les vingt-quatre heures. Après un séjour de 72 heures à l'étuve, on déterminait le PH dans chaque tube des deux séries. La série non ensemencée nous permettait de constater l'acidité apportée par l'extrait de houblon et ensuite, par comparaison, l'acidité produite au cours du développement du bacille. Les résultats obtenus sont indiqués dans les tableaux ci-dessous :

(1) Wochenschr. f. Brauerei 38, p. 107 ; 1921 ou Ann. Brasserie et Distillerie 1921, p. 1.

I. — Expérience faite avec le *Bac. subtilis*, le houblon Saaz Ia Ia 1922 et l'eau de levure :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	6.8	6.7	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0	5.9

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
PH	5.6	5.7	5.8	5.9	6.0	6.1	6.3	6.2	6.1	6.0	5.9

En examinant ce tableau on remarque que dans le cas où l'on emploie comme milieu de culture l'eau de levure non neutralisée et par conséquent faiblement acide, il faut employer une petite quantité d'extrait de houblon pour empêcher le développement du *Bac. subtilis*. On observe aussi qu'au fur et à mesure que la dose de houblon augmente, l'acidité augmente également.

L'acidité produite par le *Bac. subtilis* au cours de sa multiplication, est d'autant plus forte que la dose de houblon et l'acidité initiale sont plus faibles. M. Fernbach (1) a déjà montré, dans une étude sur l'acidification des moûts par la levure au cours de la fermentation alcoolique, que l'augmentation d'acidité est d'autant plus forte que le liquide était primitivement moins acide.

(1) C. R. Ac. Sciences, **156**, p. 77; 1913.

II. — Pour mettre en évidence l'influence de la réaction du milieu sur le pouvoir antiseptique du houblon, nous avons recommencé l'expérience exposée ci-dessus, avec la seule différence que nous avons diminué l'acidité du milieu, en ajoutant dans chaque tube 1.0 centimètre cube de soude décimale. On a procédé ensuite comme dans l'expérience précédente; les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	8.4	8.3	8.3	8.2	8.2	8.1	8.1	8.0	8.0	7.9	7.8

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop. après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PH	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0

On remarque que dans ces conditions il suffit de 24 heures pour obtenir un développement abondant du *Bac. subtilis*, même dans le tube contenant 5.0 centimètres cubes d'extrait de houblon pour 10 centimètres cubes de milieu de culture. Autrement dit, dans un milieu faiblement alcalin le houblon ne manifeste pas ses propriétés antiseptiques.

Pour vérifier les résultats obtenus, nous avons recommencé les expériences précédentes, mais en employant à la place de l'eau de levure comme milieu de culture, l'eau de touraillons et le moût de bière.

III. — Expérience faite avec le *Bac. subtilis*, le

houblon Saaz Ia Ia 1922 et l'eau de touraillons non neutralisée.

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	6.2	6.1	6.1	6.0	5.9	5.8	5.7	5.6	5.4	5.3	5.2

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
P _H	5.0	5.2	5.3	5.4	5.5	5.8	5.7	5.6	5.4	5.3	5.2

IV. — La même expérience, mais en changeant la réaction du milieu, par addition de 1.0 centimètre cube de soude décinormale dans chaque tube :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	7.8	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P _H	6.5	6.6	6.6	6.6	6.6	6.7	6.7	6.7	6.7	6.7	6.9

V. — Expérience faite avec le *Bac. subtilis*, le houblon Saaz Ia Ia 1922 et le moût de bière non neutralisé :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.6	5.6	5.6	5.6	5.5	5.5

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
P _H	5.1	5.6	5.6	5.6	5.7	5.6	5.6	5.6	5.6	5.5	5.5

VI. — La même expérience, mais en changeant la réaction du milieu, par addition de 1.0 centimètre cube de soude décinormale dans chaque tube :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	?	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
P _H	5.4	6.1	6.1	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.3	6.3

Dans l'expérience VI bien qu'on ait ajouté 1.0 centimètre cube de soude décinormale, le *Bac. subtilis* ne se développe pas dans les derniers tubes, même après 72 heures de séjour à l'étuve. Cela est dû à ce que, même après l'addition de la quantité de soude indiquée plus haut, le moût de bière reste encore acide (P_H = 6.3). En effet, nous avons ajouté aseptiquement encore quelques gouttes de soude décinormale dans les tubes où, après 72 heures, n'a pas eu lieu de multiplication et on a remarqué ensuite, après 24 heures, un développement abondant du *Bac. subtilis*.

Pour vérifier les résultats obtenus avec le *Bac. subtilis*, nous avons recommencé les expériences exposées ci-dessus, en employant comme organisme vivant le *Bacterium* « X » de Brown.

VII. — Expérience faite avec le *Bact.* « X », le houblon d'Alsace Bas-Rhin Prima 1922 et l'eau de levure non neutralisée :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
PH	5.4	5.7	5.8	5.9	6.0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0

VIII. — La même expérience, mais en changeant la réaction du milieu par addition de 1.0 centimètre cube de soude décinormale dans chaque tube :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	8.1	8.1	8.1	8.0	8.0	8.0	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PH	6.5	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.7	6.7	6.7	6.7	6.7

IX. — Expérience faite avec le *Bact.* « X », le houblon d'Alsace Bas-Rhin Prima 1922 et l'eau de touraillons non neutralisée :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	6.1	6.0	6.0	6.0	5.9	5.8	5.7	5.7	5.6	5.6	5.5

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
P _H	5.2	5.2	5.3	5.4	5.5	5.8	5.7	5.7	5.6	5.6	5.5

X. — La même expérience, mais en changeant la réaction du milieu par addition de 1.0 centimètre cube de soude décinormale dans chaque tube :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	7.4	7.4	7.4	7.3	7.3	7.3	7.2	7.2	7.2	7.1	7.0

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P _H	5.2	5.8	5.9	6.0	6.1	6.2	6.2	6.3	6.3	6.4	6.6

XI. — Expérience faite avec le *Bact.* « X », le houblon d'Alsace Bas-Rhin Prima 1922 et le moût de bière non neutralisé :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	5.4
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
P _H	5.0	5.4	5.4	5.4	5.5	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	5.4

XII. — La même expérience, mais en changeant la réaction du milieu par addition de 1.0 centimètre cube de soude décinormale dans chaque tube :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
PH	5.4	5.9	5.9	5.9	6.0	6.1	6.2	6.3	6.4	6.4	6.4

Comme dans le cas de l'expérience VI, nous avons ajouté quelques gouttes de soude décinormale dans les tubes où, après 72 heures, n'a pas eu lieu de multiplication; et nous avons constaté ensuite, après 24 heures, un développement abondant du *Bact.* « X ».

On constate qu'en employant le *Bact.* « X » comme organisme vivant, on obtient des résultats comparables à ceux obtenus avec le *Bac. subtilis*. Nous avons également fait un certain nombre d'expériences avec le bacille que nous avons isolé d'une bière acide, et les résultats confirmaient encore ceux obtenus avec le *Bac. subtilis* et le *Bact.* « X ».

De ces expériences il résulte que le pouvoir antiseptique du houblon est fonction de la réaction du milieu ; il est important en milieu acide et se trouve au contraire notablement réduit en milieu alcalin.

Pour mettre encore en évidence l'influence de l'acidité sur le pouvoir antiseptique du houblon, nous avons repris les expériences avec le bacille *Bac coli F.*

dont on ne pouvait entraver le développement même en présence de doses assez élevées d'extrait de houblon. Cette fois-ci nous avons procédé de la façon suivante :

On ajoutait au milieu de culture une quantité d'acide, variant avec le milieu, quantité qu'on déterminait après un certain nombre d'essais préliminaires, et pour laquelle le *Bac. coli F* se développait encore très bien. Ensuite on ajoutait les quantités croissantes d'extrait de houblon à 1.0 gr. pour cent. Dans ces conditions nous avons constaté qu'il fallait de faibles quantités de cet extrait pour empêcher le développement du bacille.

XIII. — Expérience faite avec le *Bac. coli F*, l'eau de levure additionnée de 1.15 centimètres cubes d'acide chlorhydrique décinormal pour 10 centimètres cubes de milieu et le houblon Aucha Ia Ia 1922 :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	4.5	4.5	4.5	4.5	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
PH	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4

XIV. — Expérience faite avec le même bacille, le même houblon et l'eau de touraillons additionnée de 0.5 centimètre cube d'acide chlorhydrique décinormal pour 10 centimètres cubes de milieu :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
PH	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4

XV. — La même expérience, mais en employant le moût de bière, additionné de 3.1 centimètres cubes d'acide chlorhydrique décinormal pour 10 centimètres cubes de milieu :

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	4.5	4.5	4.5	4.5	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4

Houblon 1/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
PH	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4

Guidé par ces expériences et les travaux de Bélohoubeck (1), de H. Morris (2), et de Briant et Meacham (3), qui montrent que le houblon apporte une

(1) Norddeutsche Brauerzeit, **10**, p. 890 ; 1815.

(2) Transaction of the Laboratory Club, **3**, p. 27 ; 1889-1890.

(3) Journ. Fed. Inst. of Brewing, **2**, p. 408 ; 1896.

certaine acidité, nous avons cherché si les propriétés antiseptiques du houblon n'étaient pas dues uniquement à l'acidité qu'il apporte. Nous avons fait dans ce but quelques expériences de la manière suivante : on préparait deux séries de tubes comme pour les expériences précédentes ; mais à la place de l'extrait de houblon on ajoutait des quantités correspondantes d'acide acétique N/100; cette acidité était à peu près celle d'un extrait de houblon à 1 gr. pour cent. Ensuite on procédait de la même manière que dans les autres expériences.

XVI. — Expérience faite avec le *Bac. subtilis* et l'eau de levure non neutralisée :

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	6.7	6.7	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	5.9	5.7

Ac. acétique N/100 :

Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.										
après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PH	5.4	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5

XVII. — Expérience faite avec le *Bac subtilis* et l'eau de touraillons non neutralisée :

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	5.8	5.7	5.6	5.5	5.4	5.2	5.1	5.0	4.9	4.8	4.7

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—
PH	4.8	5.0	5.1	5.2	5.3	5.2	5.1	5.0	4.9	4.8	4.7

XVIII. — Expérienc efaite avec le *Bac. subtilis* et
le moût de bière non neutralisé :

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	5.5	5.5	5.5	5.4	5.4	5.3	5.2	5.2	5.2	5.1	5.0

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop. après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PH	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

XIX. — Expérience faite avec le *Bact.* « X » et
l'eau de levure non neutralisée :

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	5.9	5.8

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop. après 24 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PH	5.4	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5

XX. — Expérience faite avec le *Bact.* « X » et l'eau
de touraillons non neutralisée :

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
PH	5.9	5.9	5.8	5.7	5.5	5.3	5.2	5.0	4.9	4.8	4.7

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop. après 24 h.	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
PH	5.1	5.1	5.2	5.3	5.4	5.3	5.2	5.0	4.9	4.8	4.7

XXI. — Expérience faite avec le *Bact.* « X » et le moût de bière non neutralisé :

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
P _H	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	5.3	5.2	5.2	5.2	5.1	5.1

Ac. acétique N/100 :

	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
Dévelop.											
après 24 h.	+	+	+	+	+	+	?	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?
P _H	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

On constate que dans les cas où l'on emploie l'eau de touraillons comme milieu de culture, l'acide acétique se comporte au point de vue antiseptique exactement comme l'extrait de houblon ; dans les autres cas, bien que la concentration en ions hydrogène augmente en même temps que les quantités d'acide acétique, l'acidité entrave très peu la multiplication des bacilles.

*
* *

On pourrait nous objecter que la soude que nous ajoutons pour changer la réaction du milieu détruit les principes antiseptiques du houblon ; nous avons fait une expérience destinée à réfuter cette objection.

Nous avons neutralisé avec de la soude décinormale un extrait de houblon et, après 24 heures, nous avons ajouté la quantité d'acide sulfurique correspondante pour neutraliser cette soude. Des quantités

croissantes de cet extrait ont été ajoutées dans une série de tubes préparés comme pour les expériences précédentes ; dans une deuxième série de tubes on a ajouté un extrait de houblon qui n'avait subi aucun traitement et, dans une troisième série, un extrait qui a été neutralisé.

XXII. — Les résultats de l'expérience faite avec le moût de bière et avec le *Bac. subtilis* sont indiqués ci-dessous :

1. — *Extrait de houblon additionné de soude puis de la quantité d'acide correspondante.*

Houblon 1/100 :

Dévelop.	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
après 24 h.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	?	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

2. — *Extrait de houblon sans aucun traitement.*

Houblon 1/100 :

Dévelop.	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
après 24 h.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

3. — *Extrait de houblon neutralisé.*

Houblon 1/100 :

Dévelop.	Tn.	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3	4	5 cc.
après 24 h.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
— 48 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
— 72 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

On constate que la décoction de houblon qui a été d'abord neutralisée et ensuite acidifiée se comporte

au point de vue antiseptique comme la décoction qui n'a subi aucun traitement, donc il n'y a pas de destruction des principes antiseptiques par l'action de la soude. Par contre, dans la série où l'on a ajouté la décoction neutralisée, le pouvoir antiseptique se trouve sensiblement réduit.

*
* *

On voit donc, d'après cette étude, que l'acidité exerce une influence très marquée sur le pouvoir antiseptique du houblon. Si on ne peut pas encore affirmer que le houblon agit au point de vue antiseptique, uniquement par l'acidité qu'il apporte, on peut au moins conclure que le houblon ne manifeste ses propriétés antiseptiques qu'en milieu acide. On peut donc ranger le houblon parmi les autres antiseptiques, car c'est un fait bien connu que le pouvoir toxique des antiseptiques en général est fonction de la réaction du milieu.

Ainsi M. J. Effront (1) dans ses travaux sur l'emploi des antiseptiques a montré que l'acide fluorhydrique et ses sels agissent très énergiquement dans un milieu faiblement acide, et que leur action diminue au fur et à mesure qu'on se rapproche de la neutralité. Le lait s'acidifie encore en présence de 1-3 grammes de fluorure par litre, tandis que pour le moût des grains qui a toujours une réaction franchement

(1) Moniteur Scientifique, 1890 ; 1891 ; 1892.

acide, la dose de 1-3 grammes de fluorure par hectolitre atténue considérablement son acidification par les ferments lactiques.

M. Joachimoglu (2) a montré également que le pouvoir bactéricide du sublimé, pour une dilution donnée, est nettement accru soit dans les milieux faiblement acides ($P_H = 3.3-4.4$), soit dans les milieux fortement alcalins ($P_H = 11-13$), tandis que dans les milieux faiblement alcalins ($P_H 7.8-8.9$) l'action de cet antiseptique est très atténuée.

Des résultats analogues ont été obtenus par MM. Michaelis et Dernby, dans leur étude concernant l'influence de la réaction du milieu sur l'activité des alcaloïdes du groupe de la quinine (*Zeitschr. f. Immunitätsforschung* **34** 194; 1922). Ces auteurs montrent que le pouvoir bactéricide de l'eucupine par exemple, augmente dans une large mesure avec l'alcalinité du milieu ; l'action la plus favorable à l'action de cet alcaloïde correspond à $P_H = 8$. A la réaction du sang, $P_H = 7.4$, l'action de l'eucupine est déjà considérablement diminuée, 30 à 40 pour cent de moins.

Nous avons également fait quelques expériences avec l'acide salicylique, et nous avons constaté qu'il fallait une dose 30 fois plus élevée de cet acide pour empêcher le développement du *Bac. subtilis*, dans un moût de bière légèrement alcalin, que lorsqu'il était cultivé dans le moût de bière faiblement acide.

(2) Biochem. Zeitschr., **134**, p. 489; 1923.

Il est donc de toute évidence que l'acidité joue un grand rôle dans le pouvoir toxique des antiseptiques ; mais cette notion est plus complexe qu'il ne paraît au premier abord.

Ainsi quand on détermine l'acidité d'un liquide par la méthode habituelle de titration, on n'indique que la quantité d'acide, mais pas son acidité réelle. Lorsqu'on titre, par exemple, une quantité déterminée d'acide chlorhydrique décimormal d'une part et d'acide acétique d'autre part, on emploie la même quantité d'alcali pour arriver à la neutralité. Mais l'acide chlorhydrique est pourtant, comme on le sait, plus acide au goût que l'acide acétique. La cause en est dans la différence entre les degrés de dissociation de ces deux acides ou, ce qui revient au même, dans la différence entre les concentrations des ions hydrogène libres, qui est soixante-dix fois plus forte dans l'acide chlorhydrique décimormal, par exemple, que dans l'acide acétique du même titre.

On conçoit facilement que les diverses concentrations en ions hydrogène, c'est-à-dire les diverses acidités réelles, ne sont pas indiquées de la même manière par les différents indicateurs, car ces matières colorantes ne réagissent ou ne « jouent » que dans des limites d'acidité ou d'alcalinité bien déterminées. Comme l'a fait voir M. Fernbach, l'extrait de malt a une réaction alcaline au méthylorange, et une réaction acide à la phénolphtaléine.

M. Fernbach a mis également en valeur l'importance qu'il faut attacher à cette double réaction, non

seulement quand il s'agit de l'extrait de malt, mais encore de solutions d'amidon, ce que les travaux de MM. Maquenne et Roux ont pleinement confirmé.

Si l'on veut déterminer l'acidité réelle d'un liquide, point dont tout le monde s'accorde à reconnaître la grande importance, il faut avoir recours à des méthodes permettant la détermination de la concentration des ions hydrogène.

La méthode la plus sûre et la plus commode est la méthode électrométrique qui est basée sur le principe suivant : une électrode en platine couverte de noir de platine est chargée d'hydrogène et mise dans le liquide, dont on veut déterminer la concentration en ions hydrogène. Sur l'électrode, la concentration des ions hydrogène est maxima; il en est de même par conséquent de la charge électrique. Dans le liquide, par contre, les ions hydrogène se trouvent en quantité beaucoup moins élevée ; sa charge est donc plus faible. Il s'établit de telle sorte une chute de potentiel allant de la surface de l'électrode en platine vers le liquide et qui peut être mesurée exactement par des appareils appropriés. Cette mesure permet de calculer la concentration des ions hydrogène. On voit que cette concentration est d'autant plus faible que la différence de potentiel est plus grande, parce que sur l'électrode la charge reste toujours maxima, tandis que dans le liquide, elle diminue en même temps que la quantité d'ions hydrogènes.

En ce qui concerne la fabrication de la bière, un certain nombre de savants comme MM. Fernbach, Windisch, Petit, Schönfeld, etc., ont montré le rôle que joue l'acidité, les causes qui déterminent sa production et les moyens que l'on peut employer pour l'augmenter. L'acidité influe sur la marche de la fermentation, sur la saveur de la bière, et principalement sur sa stabilité.

La marche de la fermentation dépend essentiellement de la nature du moût, et la teneur de celui-ci en sucre n'est pas le seul facteur décisif. Ce qui influe avant tout sur la marche de la fermentation, c'est la réaction du moût, c'est son acidité.

Pour qu'elle puisse travailler avec vigueur, il faut à la levure un moût d'une certaine acidité. Quand on offre à la levure un moût d'acidité insuffisante, son premier travail consiste à se créer un milieu dans lequel elle soit plus à son aise. Elle produit de l'acide et d'autant plus que le moût est plus alcalin, afin d'arriver à neutraliser les corps alcalins et à donner au moût l'acidité la plus favorable.

On comprend que l'acidité agisse directement sur la saveur de la bière, comme elle agit sur la saveur de toutes les boissons. Mais il est clair que les moûts très acides ont une composition différente de celle des moûts peu acides et se comportent autrement au houblonnage. La saveur donnée par le houblon est d'autant plus fine, que le moût est plus acide et d'autant plus âcre qu'il est moins acide ; l'acidité du moût, res-

tant bien entendu au-dessous de certaines limites qu'elle ne doit pas dépasser.

Une des notions fondamentales de la microbiologie est que la plupart des bactéries refusent de se développer dans les milieux acides qui conviennent au contraire mieux que les milieux neutres ou alcalins, au développement des moisissures et des levures. On comprend facilement dès lors que l'acidité de la bière lui permet de résister à l'infection et que la résistance est d'autant plus marquée que l'acidité est plus forte.

De notre étude ressort encore une autre propriété de l'acidité de la bière ; c'est celle qui permet au houblon de manifester ses propriétés antiseptiques et d'augmenter ainsi davantage la stabilité de la bière, question de grande importance pour les brasseurs.

CONCLUSIONS GENERALES

Les expériences qui viennent d'être rapportées montrent que la réaction du milieu exerce une influence capitale sur les propriétés antiseptiques du houblon.

Ces expériences ont porté sur le *Bac. subtilis*, le *Bact.* « X » de Brown, le *Bac. coli F*, et le bacille que nous avons isolé d'une bière acide ; comme milieux de culture on s'est servi du moût de bière, de l'eau de levure et de l'eau de touraillons avec des réactions allant de $\text{PH} = 5.5$ à $\text{PH} = 6.8$. Dans ces conditions on a constaté que des quantités faibles d'un extrait aqueux de houblon suffisent pour entraver le développement des microorganismes cités ; alors que dans les mêmes milieux, mais faiblement alcalinisés ($\text{PH} = 7.4-8.4$), le pouvoir antiseptique du houblon est presque insignifiant.

En règle générale, les limites du PH dans lesquelles le houblon est susceptible de manifester ses propriétés antiseptiques, varient suivant le milieu de culture et le bacille employé.

On admet généralement que les propriétés antiseptiques du houblon sont dues uniquement à sa teneur en résines ; mais nos expériences montrent qu'il ne faut pas négliger l'acidité qu'il apporte dans

le milieu. En effet dans les cas, où nous avons employé le *Bac. subtilis*, le *Bact. « X »* et l'eau de tourail-lons comme milieu de culture, des quantités d'acide acétique équivalentes à celles qu'apporte le houblon, se sont comportés, au point de vue action antiseptique, comme une extrait de houblon.

La soude que nous ajoutons uniquement pour changer la réaction du milieu n'a aucune influence sur les principes antiseptiques du houblon; un extrait de houblon primitivement neutralisé avec de la soude N/10 est additionné, après 24 heures, d'une quantité d'acide sulfurique nécessaire pour neutraliser la soude ajoutée, s'est comporté au point de vue action antiseptique comme l'extrait primitif.

BIBLIOGRAPHIE

Analyse du houblon.

- Aubry.** — Lintner's Lehrbuch d. Bierbrauerei, 1878, p. 96.
Briant et Meacham. — J. Inst. of Brewing, **3**, pp. 233, 897 ; 1897.
Remy. — Wochenschr. für Brauerei, **15**, p. 530 ; 1898.
Lintner. — J. Pharm. Chim., (1) **9**, p. 105.
Lintner. — Zeitschr. ges. Brauw., 21, p. 407 ; 1898.
Lintner. — Ann. Brasserie et Distillerie, **12**, p. 34 ; 1909.
Feurstein. — Zeitschr. ges. Brauw., 1911, pp. 187, 197.
Siller. — Zeitschr. Unters. d. Nahrung u. Genussmittel, **18**, p. 241.
Bartar et Tradley. — J. of Indus. and Engineering Chemistry **4**, n° 3 ou Ann. Brasserie et Distillerie **16**, p. 152 ; 1913.

Huiles essentielles du houblon.

- Payen et Chevalier.** — J. Pharm., **8**, pp. 351, 533 ; 1822.
Wagner. — J. für Chemie, **53**, p. 351 ; 1853.
Personne. — C. R. de Sciences, **38**, p. 309 ; 1854.
Ossipow. — J. prakt. Chem., (2) **28**, p. 447 ; 1883.
Chapman et Burgess. — The Brewer's Jour., **32**, p. 238.
Briant et Meacham. — J. Inst. of Brewing, **2**, p. 420 ; 1896.
Chapman. — J. Chem. Soc., Proc., **9**, p. 177 ; 1893.
Chapman. — J. Chem. Soc., Trans., **67**, pp. 54, 780 ; 1895.
Chapman. — J. Chem. Soc. Trans., **83**, p. 505 ; 1903.

Résines et principes amers du houblon.

- Ives.** — American J. of Sciences, **2**, p. 302 ; 1820.
Pellétan, Payen et Chevalier. — J. de Pharm., **8**, p. 209.
Dôbreiner. — Deutsch. Apothekerbuch, **3**, p. 636.
Leuchs. — J. prakt. Chem., **101**, p. 137.
Vieranderen. — Jahresber. f. Chem., 1858, p. 448.
Lermer. — Dingler's Polyt. Jour., **169**, p. 54 ; 1863.
Etti. — Zeitschr. ges. Brauw., 1878, p. 293.
Isslieb. — Archiv. Pharm., 1880, pp. 216, 345.
Bungener. — Bull. Soc. Chimiq., **45**, p. 487 ; 1886.
Hayduck. — Wöchenschr. f. Brauerei, 1888, p. 937.
Lintner et Bungener. — Zeitschr., ges. Brauw., 1891, p. 357.
Seyffert. — Zeitschr. ges. Brauw., 1892, n^{os} 4, 5 et 6.
Lintner et Barth. — J. Inst. of Brewing, **6**, p. 514 ; 1900.
J. Barth. — Zeitschr. ges. Brauw., **23**, p. 509 ; 1900.
E. Burcker. — Dict. de Chim. Wurtz, 2^e Supl. **5**, p. 163.
Bamberger et Landsiedl. — Zeitschr., ges. Brauw., **25**,
p. 461 ; 1902.
E. Barth. — The Brewing Trade Review, **17**, p. 216 ; 1903.
Lintner et Schnell. — Zeitschr. ges. Brauw., **27**, 666 ; 1904.
O Mohr. — Jahrbuch V. L. B., **16**, p. 516 ; 1913.

Tannin du houblon.

- Etti.** — Ann. Chem., **180**, pp. 223, 231.
Hayduck. — Wöchenschr. f. Brauerei, 1894, p. 40.
Heron. — J. Inst. of Brewing, **2**, p. 162 ; 1896.
Fernbach. — Ann. Brasserie et Distillerie, 4, pp. 481, 505,
529 ; 1901.
Chapman. — J. Inst. of Brewing, **13**, p. 647 ; 1907.

Conservation du houblon.

- Remy.** — Wöchenschr. für Brauerei, **14**, p. 63 ; 1897.
Briant et Meacham. — J. Inst. of Brewing, **3**, p. 487 ; 1897.

Briant et Meacham. — J. Inst. of Brewing, 6, p. 2 ; 1900.

Barth. — Zeitschr. ges. Brauw., **21**, p. 639 ; 1898.

Lang. — Ann. Brasserie et Distillerie, **2**, 549 ; 1899.

Briant. — The Brewing Trade Review, 1903.

E. Boullanger. — Malterie et Brasserie, Edit. 1921, p. 68.

DEUXIEME THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

*Pouvoir rotatoire des liquides purs et des solutions,
et des mélanges liquides*

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 3 mai 1924.

Le doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL.

